

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

Date of mailing (day/month/year)

31 May 1999 (31.05.99)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

BOETERS, Hans, D.
Bereiteranger 15
D-81541 München
ALLEMAGNE

Applicant's or agent's file reference

9515-Biotecon

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/EP98/05129

International filing date (day/month/year)

12 August 1998 (12.08.98)

1. The following indications appeared on record concerning:

the applicant the inventor the agent the common representative

Name and Address

BIOTECON GESELLSCHAFT FÜR
BIOTECHNOLOGISCHE ENTWICKLUNG UND
CONSULTING MBH
Gustav-Meyer-Allee 25
D-13355 Berlin
Germany

State of Nationality	State of Residence
DE	DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

the person the name the address the nationality the residence

Name and Address

BIOTECON GESELLSCHAFT FÜR
BIOTECHNOLOGISCHE ENTWICKLUNG UND
CONSULTING MBH
Tegeler Weg 33
D-10589 Berlin
Germany

State of Nationality	State of Residence
DE	DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

the receiving Office
 the International Searching Authority
 the International Preliminary Examining Authority

the designated Offices concerned
 the elected Offices concerned
 other:

Authorized officer

S. Baharou

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 27 April 1999 (27.04.99)	
International application No. PCT/EP98/05129	Applicant's or agent's file reference 9515-Biotecon
International filing date (day/month/year) 12 August 1998 (12.08.98)	Priority date (day/month/year) 12 August 1997 (12.08.97)
Applicant BERGHOF, Cornelia et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

12 March 1999 (12.03.99)

in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer R. E. Stoffel
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

**VERTRÄGE ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 9515-BioTecon	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 98/ 05129	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 12/08/1998	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 12/08/1997
Anmelder BIOTECON GESELLSCHAFT FUER BIOTECHNOLOG... et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
 - Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
 - in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.
 - zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
 - bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
 - bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
 - Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
 - Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3. **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

NUKLEINSÄUREMOLEKÜLSATZ FÜR SALMONELLA-NACHWEIS, NUKLEINSÄUREN, KIT UND VERWENDUNG

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. —

- wie vom Anmelder vorgeschlagen
- weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
- weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

keine der Abb.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/05129

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 0314294	A	03-05-1989	US 5089386 A		18-02-1992
			AT 110419 T		15-09-1994
			AU 2213488 A		16-03-1989
			DE 3851200 D		29-09-1994
			DE 3851200 T		23-03-1995
			DK 503888 A		13-03-1989
			FI 884164 A		12-03-1989
			JP 1304899 A		08-12-1989
EP 0335633	A	04-10-1989	AT 122103 T		15-05-1995
			DE 68922428 D		08-06-1995
			DE 68922428 T		25-01-1996
			JP 2150300 A		08-06-1990
			US 5658726 A		19-08-1997
EP 0479117	A	08-04-1992	AU 657491 B		16-03-1995
			AU 8489591 A		09-04-1992
			CA 2052822 A		06-04-1992
			JP 6090799 A		05-04-1994
			US 5620847 A		15-04-1997
			US 5635348 A		03-06-1997
EP 0721989	A	17-07-1996	FR 2729392 A		19-07-1996
			CA 2167354 A		17-07-1996
			CN 1148625 A		30-04-1997
			JP 8317798 A		03-12-1996
			US 5824795 A		20-10-1998
WO 9500664	A	05-01-1995	AT 160822 T		15-12-1997
			AU 6975694 A		17-01-1995
			CA 2164941 A		05-01-1995
			DE 69407187 D		15-01-1998
			DE 69407187 T		07-05-1998
			DK 707659 T		12-01-1998
			EP 0707659 A		24-04-1996
			FI 956052 A		15-12-1995
			JP 8510386 T		05-11-1996
			NO 955119 A		15-12-1995

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/05129

A. KLASSEFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X ✓	EP 0 314 294 A (GENE TRAK SYSTEMS) 3. Mai 1989 siehe Seite 3, Spalte 4, Zeile 50 – Seite 6, Spalte 9 ---	1-5
X ✓	EP 0 335 633 A (INTEGRATED GENETICS INC) 4. Oktober 1989 siehe Seite 6, Spalte 9 – Seite 9, Spalte 16; Ansprüche 1-7 ---	1-5
X ✓	EP 0 479 117 A (HOFFMANN LA ROCHE) 8. April 1992 siehe Beispiel I ---	1-5
X ✓	EP 0 721 989 A (PASTEUR INSTITUT ;INST NAT SANTE RECH MED (FR)) 17. Juli 1996 siehe Tabelle III ---	1-5, 7, 8, 10-15, 17-22 -/-



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchebericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Rechercheberichts

12. März 1999

22/03/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Osborne, H

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/05129

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>WO 95 00664 A (HOLMES MICHAEL JOHN ;BIOTEKNOLOGISK INST (DK); OLSEN JOHN ELMERDAH) 5. Januar 1995 in der Anmeldung erwähnt siehe Tabelle II</p> <p>-----</p>	<p>1-5,7,8, 10-15, 17-22</p>

M.H.
1601
Translation

09/1485434

PATENT COOPERATION TREATY

50.00

PCT

RECEIVED

AUG 23 2000

TECH CENTER 1600/2900

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 9515-Biotec	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP98/05129	International filing date (day/month/year) 12 August 1998 (12.08.1998)	Priority date (day/month/year) 12 August 1997 (12.08.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12Q 1/68		
Applicant BIOTECON GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGISCHE ENTWICKLUNG UND CONSULTING MBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 9 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I Basis of the report
- II Priority
- III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV Lack of unity of invention
- V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI Certain documents cited
- VII Certain defects in the international application
- VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 12 March 1999 (12.03.1999)	Date of completion of this report 08 December 1999 (08.12.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer Telephone No. 49-89-2399-0

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP98/05129

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

 the international application as originally filed.

AUG 23 2000

 the description, pages 1-29, as originally filed,

TECH CENTER 1600/2900

pages _____, filed with the demand,

pages _____, filed with the letter of _____,

pages _____, filed with the letter of _____.

 the claims, Nos. _____, as originally filed,

Nos. _____, as amended under Article 19,

Nos. _____, filed with the demand,

Nos. 1-21, filed with the letter of 29 October 1999 (29.10.1999),

Nos. _____, filed with the letter of _____.

 the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,

sheets/fig _____, filed with the demand,

sheets/fig _____, filed with the letter of _____,

sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

 the description, pages _____ the claims, Nos. 22 the drawings, sheets/fig _____

3. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/05129

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-6, 8	YES
	Claims	7, 9-21	NO
Inventive step (IS)	Claims	8	YES
	Claims	1-7, 9-21	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-21	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Reference is made to the following documents:

D1 = WO-A-95/00664

D2 = EP-A-0 314 294

D3 = EP-A-0 335 633

D4 = EP-A-0 479 117.

- 1) The subject matter of Claims 7, and 9-21 is not novel (PCT Article 33(2)).

WO-A-95100664 (D1) describes a set of oligonucleotides, the use of which allows identification of nearly all the *Salmonella* subspecies mentioned in Claim 1 (see Tables 2, 4, 6, 7 and Example 2). Said oligonucleotides stem from a conserved region of the genome of *Salmonella* (page 2, line 34, to page 3, line 4). Some of the oligonucleotides belonging to this set are marked. A kit containing the above-mentioned oligonucleotides is also described in D1 (Claims 15-19).

Product novelty depends solely on features of the product and not on its production process. Therefore, the subject of Claim 16 is the same as

that of Claim 15 and lacks novelty for the same reasons. Moreover, the oligonucleotides described in D1 are produced synthetically (page 12, lines 10-17).

The fact that the primers described in D1 are covered by the subject matter of Claim 1 is confirmed by Claim 5, for example. Moreover, Claims 1-3 relate to a **set** of nucleic acid molecules that permit identification of the representatives of the 7 *Salmonella* subspecies listed: a single molecule does not need to be characterized by this feature.

Therefore, D1 anticipates the novelty of Claims 7 and 9-21.

- 2) The subject matter of Claims 1-6 and 8 is novel (PCT Article 33(2)) because D1 shows that two out of 148 *Salmonella* strains were not detected (Tab. 2).
- 3) The basic problem addressed by the invention can thus be seen as the developing of a better process than that described in D1 for identifying *Salmonella* strains.
The results given in the description (page 14, line 1, to page 29) show that this problem has been apparently solved.
However, the subject matter of Claims 1-6 is characterized only by the result to be achieved. Such claims are allowed only if there is no other possibility for claiming the invention without unjustifiably restricting the scope of protection (see Guidelines, III, 4.7).
In this case, such a possibility exists in Claim 8 (see the discussion about Claim 8 (Box V.4 below)).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT/EP 98/05129

Furthermore, the closest prior art, D1, is very close to the invention: therefore, the above-mentioned result cannot be considered surprising at all. The process to which Claims 1-3 refer appears to be the same as the one in D1 (see page 2, line 22 to page 3, line 16) or D2-D4 (see the passage mentioned in the search report).

Hence, Claims 1-6 lack an inventive step (PCT Article 33(3)).

- 4) The invention can be characterized by the selection of **specific** oligonucleotides, as in Claim 8. The selection of the sequences mentioned in Claim 8 is not suggested by the documents mentioned in the search report. Moreover, the claimed sequences solve the above-described problem (application, pages 14-29). Consequently, an inventive step is recognized and Claim 8 satisfies the requirements of PCT Article 33.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/05129

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to the requirements of PCT Rule 5.1(a)(ii), the description mentions neither documents D2-D4 nor the pertinent prior art disclosed therein.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

- 1) Claims 8, 5 and 21 do not satisfy the requirements of PCT Article 6 due to a lack of clarity.
 - 1.1) Claim 8 is unclear because, as already noted in Box V(1), its subject matter is not described by the functional feature of identification of all the representatives of the *Salmonella* subspecies listed in Claims 1-3. Therefore, the scope of protection of the claim is not precisely defined because it could include the entire DNA of *Salmonella*.
 - 1.2) Claims 1-20 relate solely to the identification of representatives of the *Salmonella enterica* subspecies listed in Claims 1-3: the expression "in particular" in Claim 21 should therefore have been deleted.
 - 1.3) The claims must relate to technical features and be clear without taking the description or other documents into consideration. Therefore, Claim 5 should be amended so that the fragments are defined by their sequence and not by the mention of another document.

Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens

T-7

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 13 DEC 1999

WIPO PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 9515-Biocon	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/05129	Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr) 12/08/1998	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 12/08/1997
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12Q1/68		
Anmelder BIOTECON GESELLSCHAFT FUER BIOTECHNOLOG... et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
<input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
Diese Anlagen umfassen insgesamt 9 Blätter.
3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts II <input type="checkbox"/> Priorität III <input type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 12/03/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 08.12.99
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde: Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Luzzatto, E Tel. Nr. +49 89 2399 8169
	

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/05129

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-29 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-21 eingegangen am 15/11/1999 mit Schreiben vom 29/10/1999

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

Beschreibung, Seiten:
 Ansprüche, Nr.: 22
 Zeichnungen, Blatt:

3. Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 1-6,8 Nein: Ansprüche 7,9-21
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche 8 Nein: Ansprüche 1-7,9-21
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-21 Nein: Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/05129

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt

PUNKT V

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: WO 95 00664
- D2: EP-A-0 314 294
- D3: EP-A-0 335 633
- D4: EP-A-0 479 117

- 1) Der Gegenstand der Ansprüche 7, 9-21 ist nicht neu (Art. 33(2) PCT).

WO-A-9500664 (D1) beschreibt einen Satz von Oligonucleotiden, dessen Verwendung den Nachweis von fast all den *Salmonella* Subspezien erlaubt, die in Anspruch 1 erwähnt sind (siehe Tab. 2, 4, 6, 7 und Beisp. 2). Die genannten Oligonucleotide stammen aus einer konservierten Region des Genoms von *Salmonella* (S. 2, Z. 34-S. 3, Z. 4). Einige zum Satz gehörende Oligonucleotide sind markiert. Auch ein die obengenannten Oligonucleotide enthaltendes Kit ist in D1 beschrieben (Ansprüche 15-19).

Die Neuheit eines Produktes ist lediglich von seinen Merkmalen abhängig und nicht von dessen Produktionsverfahren. Deswegen ist der Gegenstand des Anspruchs 16 derselbe wie der des Anspruchs 15, und mangelt an Neuheit aus demselben Gründen. Ausserdem sind die im D1 beschriebenen Oligonucleotide synthetisch hergestellt (S. 12, Z. 10-17).

Die Tatsache, dass die in D1 beschriebenen Primer vom Gegenstand des Anspruchs 1 umfasst sind, wird z.B. von Anspruch 5 bestätigt. Überdies beziehen sich Ansprüche 1-3 auf einen **Satz** von Nucleinsäuremolekülen, der den Nachweis der Vertreter von den 7 aufgelisteten *Salmonella* Subspezies erlaubt: ein einzelnes Molekül braucht nicht durch dieses Merkmal gekennzeichnet zu sein.

Deswegen nimmt D1 die Neuheit der Ansprüche 7, 9-21 vorweg.

- 2) Der Gegenstand der Ansprüche 1-6 und 8 ist neu (Art. 33(2) PCT), denn D1 zeigt,

dass aus 148 getesteten Salmonella-Stämmen 2 nicht nachgewiesen wurden (Tab. 2).

- 3) Die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe kann daher gesehen werden als die Entwicklung eines im Vergleich zu dem im D1 beschriebenen verbesserten Verfahrens zum Nachweis von Salmonella-Stämmen.
- Die in der Beschreibung gegebenen Ergebnisse (S. 14, Z. 1-S. 29) zeigen anscheinend, dass diese Aufgabe gelöst worden ist.
- Jedoch ist der Gegenstand der Ansprüche 1-6 lediglich durch das zu erhaltene Ergebnis gekennzeichnet. Solche Ansprüche sind nur erlaubt, wenn es keine andere Möglichkeit gibt, die Erfindung zu beanspruchen, ohne den Schutzbereich ungerechtfertigt zu begrenzen (siehe Richtlinien, III, 4.7).
- In diesem Fall besteht eine solche Möglichkeit (siehe die Diskussion über Anspruch 8 (Punkt V.4 hierunten)). Überdies ist der nächste Stand der Technik D1 sehr nah an der Erfindung: Deshalb kann keinerweise das obengenannte Ergebnis als überraschend betrachtet werden. Auch das Verfahren, auf das Ansprüche 1-3 sich beziehen, scheint dasselbe zu sein, wie das in D1 (siehe S. 2, Z. 22-S. 3, Z. 16) oder D2-D4 (siehe die im Recherchenbericht erwähnten Stelle) beschriebene Verfahren.
- Ansprüche 1-6 sind daher nicht erforderlich (Art. 33(3) PCT).
- 4) Die Erfindung kann durch die Auswahl **bestimmter** Oligonucleotide gekennzeichnet werden, wie in Anspruch 8.
- Die Auswahl der im Anspruch 8 erwähnten Sequenzen ist von den im Recherchenbericht erwähnten Dokumenten nicht nahegelegt. Überdies lösen die beanspruchten Sequenzen die obenbeschriebene Aufgabe (Anmeldung, S. 14-29). Eine erforderliche Tätigkeit ist somit anzuerkennen.
- Anspruch 8 erfüllt somit die Erfordernisse des Art. 33 PCT.

PUNKT VII

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D2-D4 offenbare einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

PUNKT VIII

- 1) Ansprüche 8, 5 und 21 erfüllen nicht die Erfordernisse des Art. 6 PCT wegen mangelnder Klarheit.
- 1.1) Anspruch 8 ist unklar, denn, wie im Punkt V(1) bereits bemerkt, ist sein Gegenstand nicht durch das funktionelle Merkmal des Nachweises von sämtlichen Vertretern der in den Ansprüchen 1-3 aufgelisteten *Salmonella* Subspezies. Deshalb ist der Schutzbereich des Anspruchs nicht genau definiert, weil er sogar die ganze DNA von *Salmonella* umfassen könnte.
- 1.2) Ansprüche 1-20 beziehen sich ausschliesslich auf den Nachweis von Vertretern der in Ansprüchen 1-3 aufgelisteten *Salmonella enterica* Subspezies: das Wort "insbesondere" in Anspruch 21 hätte deswegen gestrichen werden sollen.
- 1.3) Die Ansprüche müssen sich auf technische Merkmale beziehen und müssen klar sein, ohne dass man die Beschreibung oder andere Dokumente in Betracht ziehen muss: deswegen sollte Anspruch 5 geändert werden, wobei die Fragmente durch ihre Sequenz definiert werden und nicht durch die Erwähnung eines anderen Dokuments.

Patentansprüche 1 bis 21
gemäß Artikel 34 PCT

1. Satz von Nucleinsäuremolekülen, mit dem sich bei einem Verfahren zum Nachweis von Vertretern von *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *bongori* und *indica* sämtliche Vertreter dieser Subspezies nachweisen lassen, dadurch gewinnbar, daß man
 - (a) in an sich bekannter Weise mit Hilfe eines Nucleinsäure-Isolats eines Vertreters einer der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies ein erstes Nucleinsäuremolekül (Nucleinsäuremolekül 1) gewinnt oder ableitet, das sich spezifisch als Primer oder Sonde zum Nachweis dieses Vertreters oder weiterer oder aller Vertreter dieser einen *Salmonella enterica*-Subspezies und gegebenenfalls zusätzlich von Vertretern weiterer *Salmonella enterica*-Subspezies eignet,
 - (b) in an sich bekannter Weise mit Hilfe eines Nucleinsäure-Isolates eines anderen Vertreters einer der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies ein zweites Nucleinsäuremolekül (Nucleinsäuremolekül 2) gewinnt oder ableitet, das sich spezifisch als Primer oder Sonde zum Nachweis dieses Vertreters oder weiterer oder aller Vertreter dieser anderen *Salmonella enterica*-Subspezies und gegebenenfalls zusätzlich von Vertretern von weiteren der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies eignet und

- (c) sofern sich mit den gemäß (a) und (b) gewinnbaren oder ableitbaren Nucleinsäuremolekülen nicht bereits alle Vertreter der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies nachweisen lassen, die Gewinnung oder Ableitung von Nucleinsäuremolekülen gemäß (a) und/oder (b) so lange fortsetzt, bis sich mit dem gewonnenen oder abgeleiteten Satz von Nucleinsäuremolekülen alle Vertreter der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies nachweisen lassen, wobei
- (d) die Nucleinsäure-Isolate phylogenetisch konservierte Basensequenzen oder Bereiche dieser Basensequenzen umfassen oder darstellen, wobei
- (e) der Satz von Nucleinsäuremolekülen ausgehend von den Nucleinsäuremolekülen, die gemäß den Stufen (a) bis (d) gewinnbar oder ableitbar sind, synthetisch und in zumindest zwei voneinander getrennten Syntheseansätzen hergestellt wurden, wobei
- (f) die einzelnen Nucleinsäuremoleküle oder einzelne der Nucleinsäuremoleküle
 - (i) an verschiedenen phylogenetisch konservierten Basensequenzen oder
 - (ii) an einundderselben phylogenetisch konservierten Basensequenz an sich nicht überlappenden Sequenzbereichen oder
 - (iii) an einundderselben phylogenetisch konservierten Basensequenz an sich überlappenden Sequenzbereichen hybridisieren und wobei
- (g) der Satz für ein einzelnes, für mehrere seiner einzelnen oder für jedes seiner einzelnen Nucleinsäuremoleküle jeweils mindestens ein weiteres Nucleinsäuremolekül umfaßt, das in einem Bereich von mindestens 10 aufeinanderfolgenden Nucleotiden ihrer Nucleotidketten in weniger als 100 %, aber zumindest in 80 % der Basensequenz übereinstimmt.

2. Satz von Nucleinsäuremolekülen, mit dem sich bei einem Verfahren zum Nachweis von Vertretern von *Salmonella enterica*

subsp. *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *bongori* und *indica* sämtliche Vertreter dieser Subspezies nachweisen lassen, dadurch **gewinnbar**, daß man

- (a) in an sich bekannter Weise mit Hilfe eines Nucleinsäure-Isolats eines Vertreters einer der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies ein erstes Nucleinsäuremolekül (Nucleinsäuremolekül 1) gewinnt oder ableitet, das sich spezifisch als Primer oder Sonde zum Nachweis dieses Vertreters oder weiterer oder aller Vertreter dieser einen *Salmonella enterica*-Subspezies und gegebenenfalls zusätzlich von Vertretern weiterer *Salmonella enterica*-Subspezies eignet,
- (b) in an sich bekannter Weise mit Hilfe eines Nucleinsäure-Isolates eines anderen Vertreters einer der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies ein zweites Nucleinsäuremolekül (Nucleinsäuremolekül 2) gewinnt oder ableitet, das sich spezifisch als Primer oder Sonde zum Nachweis dieses Vertreters oder weiterer oder aller Vertreter dieser anderen *Salmonella enterica*-Subspezies und gegebenenfalls zusätzlich von Vertretern von weiteren der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies eignet und
- (c) sofern sich mit den gemäß (a) und (b) gewinnbaren oder ableitbaren Nucleinsäuremolekülen nicht bereits alle Vertreter der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies nachweisen lassen, die Gewinnung oder Ableitung von Nucleinsäuremolekülen gemäß (a) und/oder (b) so lange fortsetzt, bis sich mit dem gewonnenen oder abgeleiteten Satz von Nucleinsäuremolekülen alle Vertreter der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies nachweisen lassen, wobei
- (d) die Nucleinsäure-Isolate phylogenetisch konservierte Basensequenzen oder Bereiche dieser Basensequenzen umfassen oder darstellen, wobei
- (e) die einzelnen Nucleinsäuremoleküle oder einzelne der Nucleinsäuremoleküle
 - (i) an verschiedenen phylogenetisch konservierten Basensequenzen oder

- (ii) an einundderselben phylogenetisch konservierten Basensequenz an sich nicht überlappenden Sequenzbereichen oder
- (iii) an einundderselben phylogenetisch konservierten Basensequenz an sich überlappenden Sequenzbereichen hybridisieren, wobei
- (f) der Satz für ein einzelnes, für mehrere seiner einzelnen oder für jedes seiner einzelnen Nucleinsäuremoleküle jeweils mindestens ein weiteres Nucleinsäuremolekül umfaßt, das in einem Bereich von mindestens 10 aufeinanderfolgenden Nucleotiden ihrer Nucleotidketten in weniger als 100 %, aber zumindest in 80 % der Basensequenz übereinstimmt, und wobei
- (g) der Saft von Nucleinsäuremolekülen keine degenerierten Nucleinsäuremoleküle umfaßt.

3. Satz von Nucleinsäuremolekülen, mit dem sich bei einem Verfahren zum Nachweis von Vertretern von *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *salamae*, *arizona*, *diarizonae*, *houtenae*, *bongori* und *indica* sämtliche Vertreter dieser Subspezies nachweisen lassen, dadurch **gewinnbar**, daß man

- (a) in an sich bekannter Weise mit Hilfe eines Nucleinsäure-Isolats eines Vertreters einer der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies ein erstes Nucleinsäuremolekül (Nucleinsäuremolekül 1) gewinnt oder ableitet, das sich spezifisch als Primer oder Sonde zum Nachweis dieses Vertreters oder weiterer oder aller Vertreter dieser einen *Salmonella enterica*-Subspezies und gegebenenfalls zusätzlich von Vertretern weiterer *Salmonella enterica*-Subspezies eignet,
- (b) in an sich bekannter Weise mit Hilfe eines Nucleinsäure-Isolates eines anderen Vertreters einer der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies ein zweites Nucleinsäuremolekül (Nucleinsäuremolekül 2) gewinnt oder ableitet, das sich spezifisch als Primer oder Sonde zum Nachweis dieses Vertreters oder weiterer oder aller Vertreter dieser anderen *Salmonella enterica*-Subspezies und gegebenenfalls zusätzlich von Ver-

tretern von weiteren der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies eignet und

- (c) sofern sich mit den gemäß (a) und (b) gewinnbaren oder ableitbaren Nucleinsäuremolekülen nicht bereits alle Vertreter der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies nachweisen lassen, die Gewinnung oder Ableitung von Nucleinsäuremolekülen gemäß (a) und/oder (b) so lange fortsetzt, bis sich mit dem gewonnenen oder abgeleiteten Satz von Nucleinsäuremolekülen alle Vertreter der genannten *Salmonella enterica*-Subspezies nachweisen lassen, wobei
- (d) die Nucleinsäure-Isolate phylogenetisch konservierte Basensequenzen oder Bereiche dieser Basensequenzen umfassen oder darstellen, wobei
- (e) die einzelnen Nucleinsäuremoleküle oder einzelne der Nucleinsäuremoleküle
 - (i) an verschiedenen phylogenetisch konservierten Basensequenzen oder
 - (ii) an einundderselben phylogenetisch konservierten Basensequenz an sich nicht überlappenden Sequenzbereichen oder
 - (iii) an einundderselben phylogenetisch konservierten Basensequenz an sich überlappenden Sequenzbereichen hybridisieren, wobei
- (f) der Satz für ein einzelnes, für mehrere seiner einzelnen oder für jedes seiner einzelnen Nucleinsäuremoleküle jeweils mindestens ein weiteres Nucleinsäuremolekül umfaßt, das in einem Bereich von mindestens 10 aufeinanderfolgenden Nucleotiden ihrer Nucleotidketten in weniger als 100 %, aber zumindest in 80 % der Basensequenz übereinstimmt und wobei
- (g) der Satz von Nucleinsäuremolekülen nur komplementierende Primer umfaßt.

4. Satz nach Anspruch 1, 2 oder 3, dadurch **gekennzeichnet**, daß der Satz für ein einzelnes, für mehrere seiner einzelnen oder für jedes seiner einzelnen Nucleinsäuremoleküle jeweils minde-

stens ein weiteres Nucleinsäuremolekül umfaßt, das in einem Bereich von mindestens 10 aufeinanderfolgenden Nucleotiden ihrer Nucleotidketten in genau einer Basenposition vom anderen bzw. weiteren Nucleinsäuremolekül abweicht.

5. Satz nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch *gekennzeichnet*, daß er ein oder mehrere, jedoch nicht ausschließlich solche Nucleinsäuremoleküle umfaßt, bei denen es sich um Fragmente der SEQ ID NO 1 gemäß WO 95/00 664 oder der hierzu komplementären Sequenz handelt.

6. Satz nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch *gekennzeichnet*, daß die einzelnen Nucleinsäuremoleküle an denselben Strang von Nucleinsäure-Isolaten von Vertretern von *Salmonella enterica*-Subspezies hybridisieren, die dem Verfahren zu ihrem Nachweis unterworfen werden.

7. Nucleinsäuremolekül, das zu einem Satz gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche gehört oder für einen derartigen Satz verwendbar ist, dadurch *gekennzeichnet*, daß die Sequenz des Nucleinsäuremoleküls in einem Bereich von mindestens 10 aufeinanderfolgenden Nucleotiden seiner Nucleotidkette exakt mit einem Sequenzbereich mindestens eines Vertreters von *Salmonella enterica*-Subspezies gemäß einem der Ansprüche 1, 2 oder 3 übereinstimmt, wobei der Sequenzbereich eine phylogenetisch konservierte Basensequenz oder einen Bereich dieser Basensequenz umfaßt oder darstellt.

8. Nucleinsäuremolekül nach Anspruch 7, dadurch *gekennzeichnet*, daß es in einem Bereich von mindestens 10 aufeinanderfolgenden Nucleotiden seiner Nucleotidkette zu 100 % oder zu mindestens 80 % identisch ist zu einer entsprechenden Zahl aufeinanderfolgender Nucleotide einer oder mehrerer der folgenden Sequenzen oder ihrer komplementären Sequenzen:

SEQ ID NO: 1 ATGGATCAGAATACGCCCG
SEQ ID NO: 2 ATGGATCAGAATACACCCCG
SEQ ID NO: 3 CAGAATAACGCCCGTTCGGC
SEQ ID NO: 4 CAGAATAACACCCGTTCGGC
SEQ ID NO: 5 CAGAATAACGCCCGTTCAGC
SEQ ID NO: 6 CAACCTAACTTCTGCGCCAG
SEQ ID NO: 7 CAACCTAACTTCTGCACCAG
SEQ ID NO: 8 CAACCTAACCTCTGCGCCAG
SEQ ID NO: 9 CAACCTAACTTCTGCGGCAG
SEQ ID NO: 10 CAGCCTAACTTCTGCGCCAG

9. Nucleinsäuremolekül, dadurch *gekennzeichnet*, daß es hinsichtlich seiner Sequenz zu einem Nucleinsäuremolekül gemäß einem der Ansprüche 7 oder 8 homolog ist und bei mindestens 10 aufeinanderfolgenden Nucleotiden seiner Nucleotidkette

- (i) mit einem Nucleinsäuremolekül gemäß einem der Ansprüche 7 oder 8 identisch ist oder
- (ii) in nicht mehr als einem Nucleotid von einem Nucleinsäuremolekül gemäß einem der Ansprüche 7 oder 8 abweicht oder
- (iii) in nicht mehr als zwei Nucleotiden von einem Nucleinsäuremolekül gemäß einem der Ansprüche 7 oder 8 abweicht.

10. Nucleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 7 bis 9, dadurch *gekennzeichnet*, daß es 10 bis 250 und vorzugsweise 15 bis 30 Nucleotide lang ist.

11. Nucleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 7 bis 10, dadurch *gekennzeichnet*, daß es einzelsträngig ist oder einen komplementären Strang aufweist.

12. Nucleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 7 bis 11, dadurch *gekennzeichnet*, daß es

- (i) als DNA oder
- (ii) als (i) entsprechende RNA oder

(iii) als PNA vorliegt, wobei des Nucleinsäuremolekül gegebenenfalls in einer für analytische Nachweisverfahren, insbesondere auf Basis von Hybridisierung und/oder Amplifizierung, in an sich bekannten Weise modifiziert oder markiert ist.

13. Nucleinsäuremolekül nach Anspruch 12, dadurch *gekennzeichnet*, daß es sich um ein modifiziertes oder markiertes Nucleinsäuremolekül handelt, bei dem bis zu 20 % der Nucleotide von mindestens 10 aufeinanderfolgenden Nucleotiden seiner Nucleotidkette Bausteine darstellen, die für Sonden und/oder Primer an sich bekannt sind, insbesondere Nucleotide darstellen, die bei Bakterien nicht natürlich vorkommen.

14. Nucleinsäuremolekül nach Anspruch 12 oder 13, dadurch *gekennzeichnet*, daß es sich um ein modifiziertes oder markiertes oder zusätzlich modifiziertes oder markiertes Nucleinsäuremolekül handelt, das in einer für analytische Nachweisverfahren an sich bekannten Weise eine oder mehrere radioaktive Gruppen, farbige Gruppen, fluoreszierende Gruppen, Gruppen zur Immobilisierung an fester Phase, Gruppen für eine indirekte oder direkte Reaktion, insbesondere für eine enzymatische Reaktion, vorzugsweise mit Hilfe von Antikörpern, Antigenen, Enzymen und/oder Substanzen mit Affinität zu Enzymen oder Enzymkomplexen, und/oder anderweitige an sich bekannte modifizierende oder modifizierte Gruppen nucleinsäureähnlichen Aufbaus aufweist.

15. Kit für analytische Nachweisverfahren, zum Nachweis von Bakterien der Gattung *Salmonella*, *gekennzeichnet* durch
(i) einen Satz von Nucleinsäuremolekülen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 oder
(ii) durch ein oder mehrere Nucleinsäuremoleküle gemäß einem der Ansprüche 7 bis 14.

16. Kit nach Anspruch 15, dadurch *gekennzeichnet*, daß der Satz von Nucleinsäuremolekülen synthetisch hergestellt wurde und daß

dieser in zumindest zwei voneinander getrennten Syntheseansätzen hergestellt wurde.

17. Kit nach Anspruch 16, dadurch **gekennzeichnet**, daß der Kit keine degenerierten Nucleinsäuremoleküle umfaßt.

18. Verwendung eines Satzes von Nucleinsäuremolekülen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, eines oder mehrerer Nucleinsäuremoleküle gemäß einem der Ansprüche 7 bis 14 oder eines Kits gemäß einem der Ansprüche 15 bis 17 zum Nachweis der An- oder Abwesenheit von Bakterien, welche Vertretern von *Salmonella enterica*-Subspezies gemäß Anspruch 1, 2 oder 3 angehören.

19. Verwendung nach Anspruch 18, dadurch **gekennzeichnet**, daß man eine Nucleinsäurehybridisierung und/oder eine Nucleinsäureamplifizierung durchführt.

20. Verwendung nach Anspruch 19, dadurch **gekennzeichnet**, daß man eine Polymerase-Kettenreaktion (PCR) als Nucleinsäureamplifikation durchführt.

21. Verwendung nach Anspruch 18, 19 oder 20, dadurch **gekennzeichnet**, daß man für die nachzuweisenden Bakterien und die nicht-nachzuweisenden Bakterien Unterschiede ihrer genomischen DNA und/oder RNA an mindestens einer Nucleotidposition im Bereich eines Nucleinsäuremoleküls gemäß einem der Ansprüche 7 bis 14 ermittelt und Vertreter einer Gruppe von Bakterien der Gattung *Salmonella* nachweist, insbesondere Vertreter von *Salmonella enterica*-Subspezies gemäß Anspruch 1, 2 oder 3.

09 / 485434

416 Rec'd PCT/PTO 09 FEB 2000

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

I, LOUISE MAY KEILLER, M.A., M.I.L., declare

1. That I am a citizen of the United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, residing at 47 Guildford Park Avenue, Guildford, Surrey, GU2 5NL.
2. That I am well acquainted with the German and English languages.
3. That the attached is a true translation into the English language of the amended claims of International Patent Application No. PCT/EP98/05129.
4. That all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements are made with the knowledge that wilful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such wilful false statements may jeopardise the validity of the patent application in the United States of America or any patent issuing thereon.

DECLARED THIS 3rd DAY OF FEBRUARY 2000

Louise May Keiller

LOUISE MAY KEILLER

Patent claims

1. Set of nucleic acid molecules by means of which, in a process for the detection of representatives of *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *bongori* and *indica*, all the representatives of those subspecies can be detected, which set of nucleic acid molecules is **obtainable** by
 - (a) obtaining or deriving a first nucleic acid molecule (nucleic acid molecule 1) in a manner known *per se* using a nucleic acid isolate of a representative of one of the mentioned *Salmonella enterica* subspecies, which first nucleic acid molecule is specifically suitable as primer or probe for the detection of that representative or of further or all representatives of that one *Salmonella enterica* subspecies and possibly also of representatives of further *Salmonella enterica* subspecies,
 - (b) obtaining or deriving a second nucleic acid molecule (nucleic acid molecule 2) in a manner known *per se* using a nucleic acid isolate of a different representative of one of the mentioned *Salmonella enterica* subspecies, which second nucleic acid molecule is specifically suitable as primer or probe for the detection of that representative or of further or all representatives of that different *Salmonella enterica* subspecies and possibly also of representatives of others of the mentioned *Salmonella enterica* subspecies, and
 - (c) unless it is already possible to detect all the representatives of the mentioned *Salmonella enterica* subspecies using the nucleic acid molecules obtainable according to (a) and (b), continuing to obtain or derive

nucleic acid molecules according to (a) and/or (b) until all the representatives of the mentioned *Salmonella enterica* subspecies can be detected using the obtained or derived set of nucleic acid molecules.

2. Set of nucleic acid molecules according to claim 1, **characterised** in that the nucleic acid isolates comprise or are phylogenetically conserved base sequences or regions of those base sequences.

3. Set of nucleic acid molecules according to claim 1 or claim 2, **characterised** in that the individual nucleic acid molecules or some of the nucleic acid molecules hybridise to

- (i) different phylogenetically conserved base sequences, or
- (ii) one and the same phylogenetically conserved base sequence at non-overlapping sequence regions, or
- (iii) one and the same phylogenetically conserved base sequence at overlapping sequence regions.

4. Set of nucleic acid molecules, especially according to any one of the preceding claims, by means of which, in a process for the detection of representatives of *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *bongori* and *indica*, all the representatives of those subspecies can be detected, **characterised** in that the set for an individual nucleic acid molecule, for a number of its individual nucleic acid molecules or for each of its individual nucleic acid molecules in each case comprises at least one further nucleic acid molecule that, in a region of at least 10 successive nucleotides of their nucleotide

chains, corresponds to less than 100% but to at least 80% of the base sequence.

5. Set according to claim 4, **characterised** in that the set for an individual nucleic acid molecule, for a number of its individual nucleic acid molecules or for each of its individual nucleic acid molecules in each case comprises at least one further nucleic acid molecule that, in a region of at least 10 successive nucleotides of their nucleotide chains, differs from the other or further nucleic acid molecule in precisely one base position.

6. Set according to either claim 4 or claim 5, **characterised** in that it comprises one or more, but not exclusively, nucleic acid molecules that are fragments of the SEQ ID NO 1 according to WO 95/00 664 or of its complementary sequence.

7. Set according to any one of the preceding claims, **characterised** in that the individual nucleic acid molecules hybridise to the same strand of nucleic acid isolates of representatives of *Salmonella enterica* subspecies that are being subjected to the process for their detection.

8. Nucleic acid molecule that belongs to a set according to any one of the preceding claims or that can be used for such a set, **characterised** in that, in a region of least 10 successive nucleotides of its nucleotide chain, the sequence of the nucleic acid molecule corresponds exactly to a sequence region of at least one representative of *Salmonella enterica* subspecies according to either claim 1 or claim 4, the sequence region comprising or being a

phylogenetically conserved base sequence or a region of that base sequence.

9. Nucleic acid molecule according to claim 8, **characterised** in that, in a region of at least 10 successive nucleotides of its nucleotide chain, it is 100% or at least 80% identical to a corresponding number of successive nucleotides of one or more of the following sequences or their complementary sequences:

SEQ ID NO: 1 ATGGATCAGAATAACGCCCG
SEQ ID NO: 2 ATGGATCAGAATAACACCCCG
SEQ ID NO: 3 CAGAATAACGCCCGTTCGGC
SEQ ID NO: 4 CAGAATAACACCCGTTCGGC
SEQ ID NO: 5 CAGAATAACGCCCGTTCAAG
SEQ ID NO: 6 CAACCTAACTTCTGCGCCAG
SEQ ID NO: 7 CAACCTAACTTCTGCACCAG
SEQ ID NO: 8 CAACCTAACCTCTGCGCCAG
SEQ ID NO: 9 CAACCTAACTTCTGCAGCAG
SEQ ID NO: 10 CAGCCTAACCTCTGCGCCAG

10. Nucleic acid molecule **characterised** in that, in respect of its sequence, it is homologous to a nucleic acid molecule according to any one of the preceding claims and, in at least 10 successive nucleotides of its nucleotide chain,

- (i) is identical to a nucleic acid molecule according to any one of the preceding claims, or
- (ii) differs from a nucleic acid molecule according to any one of the preceding claims in not more than one nucleotide, or

(iii) differs from a nucleic acid molecule according to any one of the preceding claims in not more than two nucleotides.

11. Nucleic acid molecule according to any one of the preceding claims, **characterised** in that it is from 10 to 250 nucleotides long, and preferably from 15 to 30 nucleotides long.

12. Nucleic acid molecule according to any one of the preceding claims, **characterised** in that it is single-stranded or has a complementary strand.

13. Nucleic acid molecule according to any one of the preceding claims, **characterised** in that it is present
(i) as DNA, or
(ii) as RNA corresponding to (i), or
(iii) as PNA, the nucleic acid molecule where appropriate having been modified or labelled in a manner known *per se* for analytical detection processes, especially detection processes based on hybridisation and/or amplification.

14. Nucleic acid molecule according to claim 13, **characterised** in that it is a modified or labelled nucleic acid molecule in which up to 20% of the nucleotides of at least 10 successive nucleotides of its nucleotide chain are building blocks known *per se* as probes and/or primers, especially nucleotides that do not occur naturally in bacteria.

15. Nucleic acid molecule according to claim 13 or claim 14, **characterised** in that it is a modified or labelled or additionally modified or labelled nucleic acid molecule that comprises, in a manner known *per se* for analytical detection processes, one or more radioactive groups, coloured groups, fluorescent groups, groups for immobilisation on a solid phase, groups for an indirect or direct reaction, especially for an enzymatic reaction, preferably using antibodies, antigens, enzymes and/or substances having an affinity for enzymes or enzyme complexes, and/or other modifying or modified groups of nucleic-acid-like structure that are known *per se*.

16. Kit for analytical detection processes, especially for the detection of bacteria of the *Salmonella* genus, **characterised** by

- (i) a set of nucleic acid molecules according to any one of claims 1 to 7, or
- (ii) one or more nucleic acid molecules according to any one of claims 8 to 15.

17. Kit according to claim 16, **characterised** in that the set of nucleic acid molecules was produced synthetically and that it was produced in at least two separate synthesis batches.

18. Kit according to claim 17, **characterised** in that the kit does not comprise any degenerate nucleic acid molecules.

19. Use of a set of nucleic acid molecules according to any one of claims 1 to 7, of one or more nucleic acid molecules

according to any one of claims 8 to 15 or of a kit according to any one of claims 16 to 18 to detect the presence or absence of bacteria belonging to a group of bacteria of the *Salmonella* genus, especially of representatives of *Salmonella enterica* subspecies according to claim 1 or claim 4.

20. Use according to claim 19, **characterised** in that nucleic acid hybridisation and/or nucleic acid amplification is carried out.

21. Use according to claim 20, **characterised** in that a polymerase chain reaction (PCR) is carried out as nucleic acid amplification.

22. Use according to claim 19, 20 or 21, **characterised** in that differences between the genomic DNA and/or RNA of the bacteria to be detected and of the bacteria that are not to be detected are determined at at least one nucleotide position in the region of a nucleic acid molecule according to any one of claims 8 to 15 and representatives of a group of bacteria of the *Salmonella* genus are detected, especially representatives of *Salmonella enterica* subspecies according to claim 1 or claim 4.